

Handwritten scribbles in the top left corner.

Handwritten notes in the top right corner:
- Lic-Biol. Molecular
- Imp-en Alimentos
BIO PCBs
Fur
Lic. QCA 61

Metabolismo de xenobióticos

Robert K. Murray, MD, PhD

Handwritten note: \$0.62

INTRODUCCIÓN

Cada vez más, el ser humano está sujeto a la exposición de diversas sustancias químicas extrañas (xenobióticos), sean medicamentos, aditivos en alimentos o contaminantes ambientales, etcétera. La situación se resume de manera adecuada en la siguiente cita de Rachel Carson: "Tan cruda como un arma, como la lanza del hombre de las cavernas, la artillería química ha sido lanzada contra las estructuras vitales". Carson fue una de las primeras personas en reconocer el riesgo a que se ha sometido la supervivencia de todas las formas de vida por la contaminación química indiscriminada y otros abusos de los recursos naturales de la Tierra. Éste es quizá el problema más urgente que la humanidad enfrenta y, a menos que se ataque en forma directa ya no podrá existir, en un futuro no muy lejano, bioquímica alguna sobre la tierra por la cual preocuparse. El conocimiento de la forma en que se manejan los xenobióticos a nivel celular es un aspecto importante en el aprendizaje de cómo enfrentar ataque químico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Conocer el metabolismo de xenobióticos es básico para una comprensión racional de farmacología, toxicología, investigación del cáncer y toxicomanía. En todas estas áreas se estudia la administración de xenobióticos o la exposición a ellos.

EL SER HUMANO ENCUENTRA NUMEROSOS XENOBIÓTICOS QUE DEBEN METABOLIZARSE PARA SER EXCRETADOS

Un xenobiótico (del griego, *xenos*, extraño) es un compuesto ajeno al cuerpo. Las principales clases de

xenobióticos de importancia médica son los fármacos, carcinógenos químicos y varios compuestos que han llegado a nuestro medio ambiente de una y otra manera, como bifenilos policlorinados (PCB) y ciertos insecticidas. Existen más de 200 000 compuestos químicos ambientales fabricados por el ser humano.

Gran parte de estos compuestos están sujetos a metabolismo (alteración química) en el cuerpo humano, siendo el hígado el órgano principal en que esto ocurre; en ocasiones, un xenobiótico puede excretarse sin cambio. El metabolismo de xenobióticos puede dividirse en dos fases:

En la fase 1, la reacción más común es una hidroxilación, catalizada por miembros de una clase de enzimas denominadas monooxigenasas o especies de citocromo P-450. Estas enzimas pueden también catalizar las reacciones de desaminación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reacciones de reducción. En la fase 2 también ocurren reacciones hidrolíticas y reacciones no catalizadas por P-450.

En la fase 2, los compuestos hidroxilados u otros producidos en la fase 1 se convierten por acción de enzimas específicas a varios metabolitos polares por conjugación con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión o ciertos aminoácidos o por metilación.

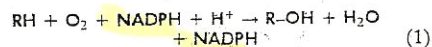
El propósito global de las dos fases del metabolismo de xenobióticos es incrementar su solubilidad en agua (polaridad) y así facilitar su excreción del cuerpo. Los xenobióticos muy hidrófobos persistirían en el tejido adiposo casi de manera indefinida si no se convirtieran a formas más polares. En ciertos casos, las reacciones metabólicas de la fase 1 convierten xenobióticos de inactivos a compuestos biológicamente activos. En este caso, los xenobióticos originales se denominan profármacos o procarcinógenos. En otros ejemplos, reacciones fase 1 adicionales (como, reacciones de hidroxilación ulteriores)

convierten los compuestos activos a otros menos reactivos o a formas inactivas, antes de la conjugación. Aún en otros casos, son las propias reacciones de conjugación las que convierten los productos activos de reacciones de fase 1 a especies menos activas o inactivas, que a continuación se excretan en orina o bilis. En muy pocos casos, la conjugación puede de hecho incrementar la actividad biológica de un xenobiótico.

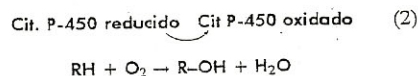
El término **destoxificación** se usa en ocasiones para referirse a muchas de las reacciones que ocurren en el metabolismo de xenobióticos. Sin embargo, no es siempre un término apropiado, debido a que, como se mencionó antes, en algunos casos las reacciones a las que se sujetan los xenobióticos en realidad incrementan su actividad biológica y su toxicidad.

LAS ESPECIES CITOCROMO P-450 HIDROXILAN A MIRÍADAS DE XENOBIÓTICOS EN LA FASE I DE SU METABOLISMO

La hidroxilación es la reacción principal que ocurre en la fase I. Las enzimas responsables se llaman **monooxigenasas** o especie de citocromo P-450. La reacción catalizada por una monooxigenasa (o especie de citocromo P-450) es:



RH puede representar una variedad muy extensa de fármacos, carcinógenos, contaminantes ambientales (como una mezcla de PCB) y ciertos compuestos endógenos como esteroides. Al citocromo P-450 se le considera el biocatalizador más versátil conocido. El mecanismo real de reacción es complejo y no se describirá aquí. No obstante, se ha demostrado mediante el uso de $^{18}O_2$, que un átomo de oxígeno entra a R-OH y el otro al agua. Este destino doble del O_2 explica el nombre original de las monooxigenasas que se designaban **oxidajas de función mixta**. La reacción por citocromo P-450 puede representarse también como:



Las monooxigenasas principales en el RE son las especies de citocromos P-450. Su nombre deriva del hecho de que la enzima se descubrió al obser-

var que las preparaciones de microsomas que habían sido reducidas por procesos químicos y luego expuestas a monóxido de carbono exhibían un máximo definido a 450 nm. Esta enzima es en extremo importante debido a que se ha calculado que alrededor de 50% de todos los fármacos ingeridos por pacientes se metabolizan por acción de especies de citocromo P-450. Además, la misma enzima actúa sobre varios carcinógenos y contaminantes ambientales.

Las especies citocromo P-450 constituyen una superfamilia de enzimas que contienen hem

Los siguientes son aspectos importantes respecto a las especies de citocromos P-450.

1) Igual que hemoglobina, son **hemoproteínas**.

2) Son más abundantes en las **membranas del retículo endoplásmico (RE)** (fracción microsómica) del hígado, en donde constituyen alrededor de 20% de la proteína membranaral total. También se encuentran en otros tejidos. En las **glándulas suprarrenales**, se encuentran en mitocondrias y también en RE; varias hidrolasas que existen en ese órgano desempeñan un papel importante en la biosíntesis de esteroides (capítulo 48). El sistema citocromo P-450 mitocondrial difiere del sistema microsómico en que usa flavoproteína ligada a NADPH, **adrenodoxina reductasa** y una proteína que contiene azufre y no requiere hierro hémico, **adrenodoxina**.

3) Hay por lo menos seis especies estrechamente relacionadas de citocromos P-450 presentes en el RE hepático, cada una con especialidades amplias y algo traslapadas de sustratos, que actúan sobre una variedad muy extensa de medicamentos, carcinógenos y otros xenobióticos, además de compuestos endógenos como ciertos esteroides. Los genes para estas especies de citocromo P-450 se han aislado y estudiado con detalle en años recientes; se han identificado por lo menos 38 genes que codifican a los miembros de la superfamilia citocromo P-450 en la rata. Es probable que en los seres humanos los genes de este tipo excedan de manera considerable esta cifra.

4) **NADPH**, no **NADH**, colabora en el mecanismo de reacción de citocromo P-450. La enzima que usa NADPH para producir citocromo P-450 reducido, mostrada en el lado izquierdo de la ecuación (2), se designa **NADPH-citocromo P-450 reductasa**. Esta enzima es un componente importante del sistema del citocromo P-450. Esto conduce a la activación reductiva del oxígeno molecular y a continuación, un átomo de oxígeno se inserta en el sustrato.

5) El sistema citocromo P-450 también contiene lípidos. El lípido preferido es **fosfatidilcolina**, que es el más abundante en las membranas del retículo endoplásmico.

6) La mayor parte de las especies de citocromo P-450 son **inducibles**. Por ejemplo, la administración de fenobarbital (PB) o de otros muchos fármacos, causa hipertrofia de RE liso y un incremento de 3 a 4 veces la cantidad normal de citocromo P-450 en 4 a 5 días. El mecanismo de introducción se ha estudiado en forma extensa y comprende aumento en la transcripción de RNAm para citocromo P-450.

La inducción de esta enzima tiene implicaciones clínicas importantes, ya que es uno de los mecanismos bioquímicos de **interacción farmacológica**. Esta última ocurre cuando los efectos de un medicamento se han alterado por administración previa o concurrente de otro. Para ilustrar esto, supóngase que un paciente está tomando el anticoagulante dicumarol para prevenir la coagulación sanguínea. Este fármaco es metabolizado por el sistema de citocromo P-450. Ahora, supóngase que se descubre que el paciente también necesita fenobarbital, para tratar algún otro trastorno, como cierto tipo de epilepsia. En concordancia, se inicia la administración de fenobarbital pero la dosis de dicumarol no se cambia. Después de cinco días más o menos, la concentración de citocromo P-450 en el hígado del enfermo se elevará 3 a 4 veces. Esto significa que el dicumarol será metabolizado mucho más aprisa que antes y su dosificación será inadecuada. Por tanto, la dosis debe incrementarse para que esté en un nivel terapéutico. Para seguir con este ejemplo, un problema surgiría más tarde si el fenobarbital se suspende y la dosificación elevada de dicumarol continúa. El paciente tendrá riesgo de hemorragia dado que esta vez el dicumarol será más activo al conservarse por más tiempo en la circulación antes de ser depurado ya que citocromo P-450 declinará una vez retirado el fenobarbital.

7) Una de las especies de citocromo P-450 muestra un máximo de absorción característico no a 450 nm, sino a 448 nm. Se nombra **citocromo P-448** aunque la nomenclatura de varias especies de citocromos P-450 ahora está basado en una homología estructural, mayormente derivado de la secuenciación del DNAC. Esta especie es al parecer algo específica para el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y moléculas relacionadas; por esta razón se conoce como **hidrocarburo aromático hidroxilasa (AHH)**. Esta enzima es muy importante en el metabolismo de PAH y en la carcinogénesis producida por estos agentes. Por ejemplo, en el pulmón puede intervenir en la conversión de PAH inactivos (procarcinógenos), inhalados al fu-

mar, a carcinógenos activos por reacciones de hidroxilación. Los fumadores muestran concentraciones más altas de esta enzima en algunas de sus células y tejidos que los no fumadores. Algunos estudios sugieren que la actividad de esta enzima puede elevarse (inducirse) en la **placenta** de mujeres fumadoras, alterando así en forma potencial las cantidades de metabolitos de PAH (algunos de los cuales podrían ser nocivos) a los que se expone el feto.

8) Datos recientes han demostrado que especies individuales de citocromo P-450 existen con frecuencia en formas **polimórficas**, algunas de ellas con escasa actividad catalítica. Estas observaciones son una explicación importante de las **variaciones en la respuesta a medicamentos** notada entre pacientes.

LAS REACCIONES DE CONJUGACIÓN PREPARAN LOS XENOBIÓTICOS PARA EXCRECIÓN EN LA FASE 2 DE SU METABOLISMO

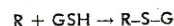
En general, en las reacciones fase 1, los xenobióticos son convertidos a derivados hidroxilados, más polares. En las reacciones fase 2, estos derivados se **conjugan** con moléculas como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. Esto los hace aún más solubles en agua y por último se excretan en orina o bilis.

Existen por lo menos cinco tipos de reacciones fase 2

Glucuronidación: La glucuronidación de bilirrubina se estudió en el capítulo 34. Las reacciones usadas para glucuronidación de xenobióticos son en esencia análogas. El **ácido glucurónico-UDP** es el donador glucuronilo y los catalizadores son varias **glucuronil transferasas**, presentes en RE y el citosol. Moléculas como 2-acetilaminofluoreno (un carcinógeno), anilina, ácido benzoico, meprobromato (un tranquilizador), fenol y muchos esteroides se excretan como glucuronidos. El radical glucurónico puede adherirse a oxígeno, nitrógeno o grupos sulfuro de los sustratos. Es probable que la glucuronidación sea la reacción de conjugación más frecuente.

Sulfatación: Algunos alcoholes, arilaminas y fenoles se sulfatan. El donador de sulfato en éstas y otras reacciones biológicas de sulfatación (por ejemplo, sulfatación de esteroides, glucosaminoglucanos, glucolípidos y glucoproteínas) es de 3'-fosfato-5' fosfosulfato de adenosina (PAPS) (véase capítulo 26); este compuesto se conoce como **sulfato activo**.

Conjugación con glutatión: Glutatión es un tripeptido (γ -glutamylcisteinylglycine) que consiste en ácido glutámico, cisteína y glicina (figura 5-4). Su abreviatura común es GSH; SH indica el grupo sulfhidrilo de su cisteína y es la parte activa de la molécula. Ciertos número de xenobióticos electrófilos tóxicos (como algunos carcinógenos) se conjugan al GSH nucleófilo, en reacciones que pueden representarse:



donde R = un xenobiótico electrófilo. Las enzimas que catalizan estas reacciones se llaman **glutatión-S-transferasas** y existen en cantidades elevadas en el citosol de hepatocitos y menores en otros tejidos. En el hombre, hay diversas glutatión-S-transferasas. Exhiben especificidades diferentes de sustratos y pueden separarse por electroforesis y otras técnicas.

Si los xenobióticos con potencial tóxico no fueran conjugados a GSH, quedarían libres para combinarse por covalencia con DNA, RNA o proteína celular y así causar un daño grave a la célula. Por tanto, GSH es un mecanismo importante de defensa contra ciertos compuestos tóxicos, como algunos medicamentos y carcinógenos. Si la concentración de GSH en un tejido como el hepático se reduce (lo que puede ocurrir por administración a las ratas de ciertos compuestos que reaccionan con GSH), entonces puede demostrarse que ese tejido es más susceptible a lesión por varios compuestos químicos que en forma normal se conjugan con GSH.

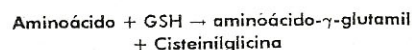
Los conjugados con glutatión están sujetos a metabolismo adicional antes de excreción. Los grupos glutamilo y glicínico que pertenecen al glutatión son removidos por enzimas específicas y se agrega un grupo acetilo (donado por acetil-CoA) al radical amino remanente del residuo cisteinil. El compuesto resultante es el **ácido mercaptúrico**, un conjugado de L-acetilcisteína que a continuación se excreta en la orina.

El glutatión tiene otras funciones importantes en las células humanas, aparte de su función en el metabolismo de xenobióticos.

1) participa en la descomposición de peróxido de hidrógeno potencialmente tóxico en la reacción catalizada por glutatión peroxidasa (capítulo 22).

2) Es un reductor intracelular importante, que ayuda a conservar los grupos SH esenciales de las enzimas en su estado reducido. Esta acción se estudió en el capítulo 22 y su intervención en la anemia hemolítica causada por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa se describió en los capítulos 22 y 60.

3) Se ha implicado al GSH en un ciclo metabólico como portador en el transporte de ciertos aminoácidos que cruzan las membranas de los riñones. La primera reacción del ciclo es:



Esta reacción ayuda a transferir ciertos aminoácidos a través de la membrana plasmática; más adelante el aminoácido se hidroliza de su complejo con GSH y éste se resintetiza a partir de cisteinilglicina. La enzima que cataliza la reacción anterior es γ -glutamyltransferasa (GGT, del inglés, γ -glutamyltransferase). Se encuentra en la membrana plasmática de células de los túbulos renales y en el RE de hepatocitos. La enzima tiene valor diagnóstico, debido a que es secretada a la sangre desde los hepatocitos en varias enfermedades hepatobiliares.

Otras reacciones: Las dos más importantes son acetilación y metilación. La acetilación se representa por:



donde X es un xenobiótico. Igual que en otras reacciones de acetilación, acetil-CoA (acetato activo) es el donador de acetilo. Estas reacciones son catalizadas por acetiltransferasas presentes en el citosol de varios tejidos, en particular hepático. El medicamento isoniácida, usado en el tratamiento de tuberculosis, está sujeto a acetilación. Existen tipos polimórficos de las acetiltransferasas, habiendo por tanto, personas que se clasifican como acetiladores lentos y rápidos e influyen en el índice de depuración de fármacos como isoniácida de la sangre. Los acetiladores están sometidos a ciertos efectos tóxicos de isoniácida debido a que el fármaco persiste por más tiempo en ellos.

Algunos xenobióticos se depuran por metilación con metiltransferasas como catalizadores, empleando S-adenosilmetionina (figura 32-21) como donador del grupo metilo.

LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS METABOLIZADORAS DE XENOBIÓTICOS SON AFECTADAS POR EDAD, SEXO Y OTROS FACTORES

Varios factores modifican las actividades de las enzimas que metabolizan xenobióticos.

1) La acción de las enzimas puede diferir de manera sustancial entre especies. Esto es importante

ya que significa que los resultados, por ejemplo, de la posible toxicidad o carcinogenicidad de los xenobióticos no puede ser extrapolada libremente de una especie a otra.

2) Hay también diferencias significativas entre personas, muchas de las cuales al parecer se deben a factores genéticos.

3) Las actividades de algunas de estas enzimas varían de acuerdo a edad y sexo.

4) La ingestión de varios xenobióticos como fenobarbital, PCB o ciertos hidrocarburos puede causar inducción enzimática. Por tanto, interesa conocer si una persona se ha expuesto o no a estos agentes inductores en la valoración de respuestas bioquímicas a xenobióticos.

5) Los metabolitos de ciertos xenobióticos pueden inhibir las actividades de enzimas metabolizantes de xenobióticos.

LAS RESPUESTAS A XENOBIÓTICOS INFLUYEN EFECTOS FARMACOLÓGICOS, TÓXICOS, INMUNOLÓGICOS Y CARCINÓGENOS

Los xenobióticos se metabolizan en el cuerpo por las reacciones descritas antes. Cuando el xenobiótico es un fármaco, las reacciones fase I pueden producir su forma activa o disminuir o terminar su acción si es farmacológicamente activo en el cuerpo antes de su metabolismo. Los diversos efectos pro-

ducidos por medicamentos en el cuerpo corresponden al área de estudio de la farmacología; aquí es importante apreciar que los fármacos actúan a través de mecanismos bioquímicos.

Ciertos xenobióticos son muy tóxicos, inclusive a concentraciones bajas (por ejemplo, cianuro). Por otra parte, hay algunos, incluyendo fármacos, que no ejercen efecto tóxico alguno si se administran en la cantidad adecuada. Por tanto, los efectos tóxicos de xenobióticos cubren un espectro en extremo amplio. Sin embargo hay tres tipos generales de acciones (figura 61-1) que se mencionarán aquí de manera breve, debido a su relación con el metabolismo de xenobióticos.

El primero de éstos es la **lesión celular**, que puede ser lo bastante grave para causar la muerte de la célula. Son muchos los mecanismos usados por los xenobióticos para lesionar las células. Uno considerado aquí es la **fijación covalente** de macromoléculas celulares a especies reactivas de xenobióticos producidos por metabolismo. Estos blancos macromoleculares incluyen DNA, RNA y proteína. Si la macromolécula donde el xenobiótico se une es esencial para supervivencia a corto plazo de la célula, por ejemplo, una proteína o una enzima que se ocupa de alguna función celular crítica como fosforilación oxidativa o regulación de la permeabilidad de la membrana plasmática, el deterioro de la función celular podría hacerse evidente con bastante rapidez.

Segundo, la especie reactiva de un xenobiótico puede unirse a una proteína, modificándola y al-

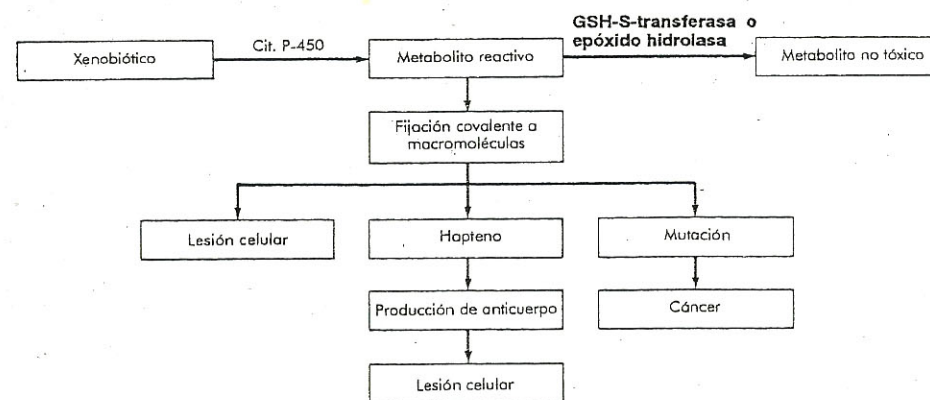
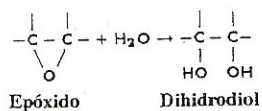


Figura 61-1. Esquema simplificado que muestra cómo el metabolismo de un xenobiótico puede causar lesión celular, daño inmunológico o cáncer. En este ejemplo, la conversión del xenobiótico a un metabolito reactivo es catalizada por una especie de citocromo P-450 y la conversión del metabolito reactivo (por ejemplo, un epóxido) a un metabolito no tóxico se debe a la acción de GSH-S-transferasa o de epóxido hidrolasa.

terando su antigenicidad. Se dice que el xenobiótico actúa como un **hapteno**, es decir, una molécula pequeña que por sí misma no estimula la síntesis de anticuerpo pero se combinará con éste una vez formado. Luego, los anticuerpos resultantes pueden lesionar la célula por varios mecanismos inmunológicos que perturban en forma masiva los procesos bioquímicos normales.

Tercero, se piensa que las reacciones de especies activadas de carcinógenos químicos con DNA tiene gran importancia en su acción carcinogénica química (capítulo 62). Algunos compuestos químicos requieren (por ejemplo, benzo(a)pireno) activación por monooxigenasas en RE para convertirse en carcinógenos (por tanto, se designan **carcinógenos indirectos**). Así, la actividad de monooxigenasas y otras enzimas metabolizantes de xenobióticos presentes en RE ayudan a determinar si estos compuestos se vuelven carcinógenos o son "destoxificados". Otras sustancias químicas (por ejemplo, varios agentes alquilantes) pueden reaccionar de manera directa (**carcinógenos directos**) con DNA, sin experimentar activación química intracelular.

La enzima **epoxidohidrolasa** interesa debido a que puede ejercer un efecto protector contra ciertos carcinógenos. Los productos de la acción de ciertas monooxigenasas sobre sustratos procarcinógenos son **epóxidos**. Estas sustancias son sumamente reactivas y mutágenas y/o carcinógenas. Epóxido hidrolasa, igual que citocromo P-450 también presente en las membranas del RE, actúa sobre estos compuestos, convirtiéndolos en dihidrodioles mucho menos reactivos. La reacción catalizada por epoxidohidrolasa puede representarse como sigue:



RESUMEN

Los xenobióticos son compuestos químicos extraños al cuerpo, como medicamentos, aditivos de alimentos y contaminantes ambientales; se han identificado

más de 200 000. Los xenobióticos son metabolizados por el organismo en dos fases. La reacción principal de la fase 1 es la hidroxilación catalizada por diversas monooxigenasas, conocidas también como especies citocromo P-450. En la fase 2, los xenobióticos hidroxilados se conjugan con diversos compuestos hidrófilos como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. La operación combinada de estas dos fases convierte a compuestos lipofílicos en sustancias solubles en agua que pueden ser eliminadas del cuerpo.

Las especies citocromo P-450 catalizan reacciones que introducen un átomo de oxígeno derivado del oxígeno molecular al sustrato, generando un producto hidroxilado. En el complejo mecanismo de reacción intervienen NADPH y NADPH-citocromo P-450 reductasa. Todas las especies citocromo P-450 son homoproteínas y tienen una amplia especificidad de sustrato ya que actúan sobre numerosos compuestos exógenos y endógenos. Representan el biocatalizador más versátil conocido. En la rata se han identificado por lo menos 38 genes como miembros de la superfamilia genética citocromo P-450 y es probable que en el ser humano esta cifra se exceda con creces. En general, las especies citocromo P-450 se localizan en el retículo endoplásmico celular y los hepatocitos son en especial ricos en ellas. Numerosas especies citocromo P-450 son inducibles. Esta propiedad tiene implicaciones considerables en fenómenos como interacción farmacológica. También existen especies mitocondriales de citocromo P-450 y actúan como catalizadores en la biosíntesis de colesterol y esteroides. Usan una proteína que contiene azufre y no requiere hierro hémico, la adrenodoxina. Debido a sus actividades catalíticas, las especies citocromo P-450 desempeñan funciones importantes en las reacciones celulares a compuestos químicos y en carcinogénesis química.

Las reacciones de la fase 2 son catalizadas por enzimas como glucuroniltransferasas, sulfotransferasas y glutatión S-transferasas, que utilizan UDP-ácido glucurónico, PAPS (sulfato activo) y glutatión, respectivamente, como donadores. El glutatión (γ -glutamilcisteinilglicina) no sólo tiene una acción destacada en las reacciones de la fase 2 sino que es también un compuesto reductor e intervienen en el transporte de ciertos aminoácidos al interior de las células. ■

REFERENCIAS

- Guengerich FP: Reactions and significance of cytochrome P-450 enzymes. *J Biol Chem* 1991;255:10019.
- Jakoby WB, Ziegler DM: The enzymes of detoxication. *J Biol Chem* 1990;265:20715.
- Katzung BG (editor): *Basic & Clinical Pharmacology*, 4th ed. Appleton & Lange, 1989.
- Klaassen CD, Amdur MO, Doull J (editors): *Casarett & Doull's Toxicology*, 3rd ed. Macmillan, 1986.
- Nebert DW, Gonzalez FJ: P450 genes: Structure, evolution and regulation. *Annu Rev Biochem* 1987;56:945.
- Nebert DW, Gonzalez FJ: P450 genes and evolutionary genetics. *Hosp Pract* (March) 1987;22:63.
- Okey AB: Enzyme induction in the cytochrome P-450 system. *Pharmacol Ther* 1990;45:241.
- Porter RD, Coon MJ: Cytochrome P-450: Multiplicity of isoforms, substrates and catalytic and regulatory mechanisms. *J Biol Chem* 1991;266:13469.

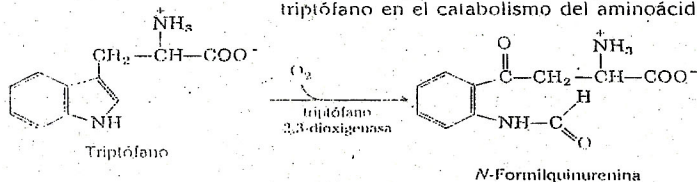
Recuadro 20-1

Oxidasa de función mixta, oxigenasas y citocromo P-450

En este capítulo encontramos varios enzimas en reacciones de oxidación-reducción en las que uno de los participantes es el oxígeno molecular. Una de estas reacciones es la que introduce un doble enlace en una cadena acil graso (Fig. 20-14).

Oxidasa es el nombre genérico para enzimas que catalizan oxidaciones en las que el oxígeno molecular es el aceptor electrónico aunque los átomos de oxígeno no aparezcan en el producto oxidado (aunque hay una excepción a esta "regla" tal como veremos). El enzima que crea un doble enlace en el acil graso-CoA durante la oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas (ver Fig. 16-13) es una oxidasa de este tipo al igual que la citocromo oxidasa de la cadena de transporte electrónico mitocondrial (ver Fig. 18-11). En el primer caso, la transferencia de dos electrones al H_2O produce peróxido de hidrógeno, H_2O_2 ; en el segundo, dos electrones reducen $1/2 O_2$ a H_2O . Una gran parte de las oxidasas, aunque no todas, son flavo-proteínas.

Las **oxigenasas** catalizan reacciones oxidativas en las que átomos de oxígeno se incorporan directamente a la molécula de sustrato formando, por ejemplo, un nuevo grupo hidroxilo o carboxilo. Las **dioxigenasas** catalizan reacciones en las que los dos átomos de oxígeno del O_2 se incorporan en la molécula orgánica de sustrato. Ejemplo de una dioxigenasa es la triptófano 2,3-dioxigenasa que cataliza la apertura del anillo pentaatómico del triptófano en el catabolismo del aminoácido:



Cuando esta reacción transcurre en presencia de $^{18}O_2$, los átomos de oxígeno isotópicos se encuentran en los dos grupos carbonilo del producto (señalados en rojo).

Las **monooxigenasas**, que son más abundantes y complejas en su acción, catalizan reacciones en las que sólo uno de los dos átomos de oxígeno del O_2 se incorpora al sustrato orgánico, siendo el otro reducido a H_2O . Las monooxigenasas requieren dos sustratos que actúen como reductores de los dos átomos de oxígeno del O_2 . El sustrato principal acepta uno de los dos átomos de oxígeno mientras que un cosustrato aporta átomos de hidrógeno para reducir el otro átomo de oxígeno a H_2O . La ecuación general de las monooxigenasas es



en donde AH es el sustrato principal y BH_2 el cosustrato. Debido a que la mayor parte de monooxigenasas catalizan reacciones en las que se hidroxila el sustrato principal, también se denominan **hidroxilasas**. A veces también se las denomina **oxidasas de función mixta** u **oxigenasas de función mixta**, para indicar que oxidan simultáneamente dos sustratos. (Obsérvese aquí el uso de "oxidasa", una desviación del significado general de este término.)

Hay diferentes clases de monooxigenasas, según sea la naturaleza del cosustrato. Algunas utilizan nucleótidos de flavina reducidos ($FMNH_2$ o $FADH_2$), otras utilizan NADH o NADPH y aún otras utilizan α -cetoglutarato como sustrato. El enzima que hidroxila el anillo fenilo de la fenilalanina para dar tirosina es una monooxigenasa en la que el cosustrato es la tetrahidrobiopterina (ver Fig. 17-27). (Este es el enzima defectuoso en la enfermedad genética humana fenilcetonuria.)

sa de función mixta (Recuadro 20-1). Dos sustratos diferentes, el ácido graso y el NADPH, experimentan simultáneamente oxidaciones de dos electrones. La ruta del flujo electrónico incluye un citocromo (citocromo b_5) y una flavoproteína (citocromo b_5 reductasa) que están presentes, al igual que la propia acil graso-CoA desaturasa, en el retículo endoplasmático liso.

Los hepatocitos de mamífero pueden introducir fácilmente dobles enlaces en la posición Δ^9 de los ácidos grasos pero no pueden introducir más dobles enlaces en la cadena de ácido graso entre C-10 y el extremo metilo

Las reacciones de monooxigenación más numerosas y complejas son las que emplean un tipo de hemoproteína denominada **citocromo P-450**. Este tipo de citocromo se encuentra normalmente presente en el retículo endoplasmático liso en lugar de la mitocondria. Al igual que la citocromo oxidasa mitocondrial, el citocromo P-450 puede reaccionar con O_2 y con monóxido de carbono, pero se puede diferenciar de la citocromo oxidasa porque el complejo con monóxido de carbono de su forma reducida absorbe fuertemente la luz a 450 nm; de ahí el nombre P-450.

El citocromo P-450 cataliza reacciones de hidroxilación en las que un sustrato orgánico RH se hidroxila a R-OH a expensas de un átomo de oxígeno de O_2 ; el otro átomo de oxígeno se reduce a H_2O por acción de equivalentes de reducción aportados por el NADH o el NADPH pero que normalmente se pasan al P-450 por una proteína ferro-sulfurada. La Figura 1 muestra un esquema simplificado de la acción del citocromo P-450, el cual tiene pasos intermedios no totalmente caracterizados.

El citocromo P-450 es en realidad una familia de proteínas muy similares; se conocen varios centenares de miembros de esta familia proteica, cada uno con una especificidad de sustrato diferente. En la corteza adrenal hay un citocromo P-450 específico que participa en la hidroxilación de esteroides para dar, por ejemplo, las hormonas adrenocorticales (Fig. 20-42). El citocromo P-450 también es importante en la hidroxilación de muchos tipos diferentes de fármacos, como los barbituratos y otros xenobióticos (sustancias extrañas al cuerpo), especialmente si son hidrofóbicos y relativamente insolubles. El carcinógeno ambiental benzo[a]pireno (que se encuentra en el humo de los cigarrillos) experimenta una hidroxilación dependiente del ci-

tocromo P-450 en el transcurso de su detoxificación. La hidroxilación de estos compuestos foráneos los hace más hidrosolubles permitiendo su excreción en la orina. Desgraciadamente, la hidroxilación de algunos compuestos los convierte en sustancias tóxicas, con lo que se subvierte el sistema de detoxificación.

Reacciones descritas en este capítulo que son catalizadas por oxidasas de función mixta son las que intervienen en la desaturación de acil graso-CoA (Fig. 20-14); síntesis de leucotrienos (Fig. 20-17), síntesis de plasmalógenos (Fig. 20-28), conversión de escualeno en colesterol (Fig. 20-35), y síntesis de hormonas esteroideas (Fig. 20-42).

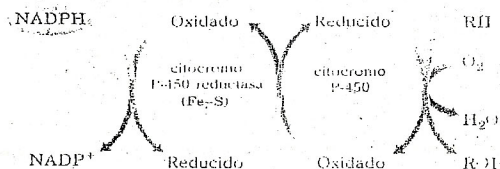


Figura 1

terminal. Los mamíferos no pueden sintetizar linoleato, 18:2($\Delta^{9,12}$) y α -linolenato, 18:3($\Delta^{9,12,15}$), si bien ambos pueden ser sintetizados por las plantas. Las desaturasas vegetales que introducen dobles enlaces en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15} están localizadas en el retículo endoplasmático. Estas enzimas no actúan sobre ácidos grasos libres sino sobre un fosfolípido, la fosfatidilcolina que contiene al menos un oleato unido al glicerol (Fig. 20-15, p. 656).

Debido a que son precursores necesarios para la síntesis de otros productos, el linoleato y el linolenato son **ácidos grasos esenciales** para